

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 639**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185	(2006.01)	A61K 36/02	(2006.01)
A61K 36/50	(2006.01)		
A61K 36/515	(2006.01)		
A61K 36/11	(2006.01)		
A61K 36/30	(2006.01)		
A61K 36/15	(2006.01)		
A61K 36/90	(2006.01)		
A61K 36/56	(2006.01)		
A61K 36/52	(2006.01)		
A61P 17/02	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2013 PCT/EP2013/062573**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2013 WO13189908**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2013 E 13729369 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017 EP 2863931**

54 Título: **Composiciones para su uso en el tratamiento de heridas**

30 Prioridad:

22.06.2012 EP 12173200

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

27.02.2018

73 Titular/es:

**BIOLOGISCHE HEILMITTEL HEEL GMBH
(100.0%)
Dr.-Reckeweg-Strasse 2-4
76532 Baden-Baden, DE**

72 Inventor/es:

**BURMEISTER, YVONNE y
SEILHEIMER, BERND**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 656 639 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones para su uso en el tratamiento de heridas

La presente invención se define en las reivindicaciones 1 a 6.

Las heridas pueden producirse como resultado de una lesión no prevista tal como un accidente o una lesión prevista, por ejemplo, durante la cirugía. En cualquier caso, es un objetivo de atención médica curar heridas en un breve periodo de tiempo para evitar cualquier invasión dañina de patógenos o compuestos tóxicos del organismo herido. Existe un complejo proceso, denominado cicatrización de heridas que, en condiciones normales, está destinado a restaurar los tejidos después de una lesión y a evitar la infiltración dañina de patógenos.

Dependiendo del tipo de tejido implicado, la cicatrización de heridas se puede dividir en diferentes fases, es decir, hemostasia (si se precisa), respuesta inflamatoria, invasión y proliferación y remodelación. Por ejemplo, en el caso de una lesión en la piel, la agregación plaquetaria se produce en la primera fase para generar un coágulo que detenga la hemorragia. En la segunda fase, se produce una respuesta inflamatoria para eliminar los posibles residuos celulares, células necrosadas y patógenos que puedan haber entrado en el cuerpo a través del tejido herido. La siguiente fase proliferativa se caracteriza por la angiogénesis, deposición de colágeno, formación de tejido de granulación, epitelización y contracción de la herida. Finalmente, la fase de remodelación alinea la matriz extracelular, por ejemplo, fibras, de acuerdo con las líneas de tensión en el tejido. Adicionalmente, las células que ya no son necesarias experimentan apoptosis en un intento de restaurar la homeostasia del tejido afectado. (Ferguson 2004, *Phil Trans R Soc Lond B* 359: 839-885; Enoch 2008, *Surgery* 26(2): 31-37; Young 2011, *Surgery* 29(10): 475-479; Redd 2004, *Phil Trans R Soc Lond B* 359(14445): 777-784; Shaw 2009, *J Cell Sci* 122(Pt18): 3209-13; Werner 2003, *Physiol Rev* 83(3): 835-870).

Se han notificado fármacos herbáceos y homeopáticos durante mucho tiempo como sustancias terapéuticas que pueden alterar la cicatrización de heridas. Se ha descrito que extractos naturales de plantas o animales como árnica, hipérico, caléndula, ledum palustre, staphysagria, aloe vera, phytolacca, Napoleona imperialis y bufo mejoran la cicatrización de heridas. Scarlat y col. describen la actividad antiulcerosa experimental de extractos de *Veronica officinalis* L. (*Journal of Ethnopharmacology* 1985, vol. 13(2), pp. 157-163). Se sabe que la miel es un agente antibacteriano tópico para el tratamiento de heridas infectadas. Por el contrario, muchas mediaciones convencionales pueden tener efectos adversos que interfieren en los procesos de cicatrización de heridas. Los fármacos antiinflamatorios son inmunodepresores e incluso podrían retrasar la cicatrización de heridas impidiendo la respuesta inflamatoria. La gestión de heridas es una ventaja. Los productos que apoyan la cicatrización de heridas se investigan principalmente en el campo de la cicatrización de heridas (Stevenson 2002, *Phytother Res* 16(1): 33-35; Mai 2003, *Biomaterials* 24(18): 3005-3012; Brakhenhielm 2001, *FASEB* 15: 1798-1800; Singer 1999, *New Engl J Medicine* 341(10): 738-746).

Lymphomyosot® o Lymphomyosot N® es un agente complejo homeopático que, en un estudio con seres humanos, se ha encontrado eficaz para tratar edemas de etiología inflamatoria o trombótica (Küstermann 1997, *Biologische Medizin* 26(3): 110-114; Latini 1999, *Biomedical Therapy* 17(3): 79-82; Moyseyenko 2009, *Europ J Integr Med* 1(4): 251; Schmolz 2001, *Bio Med* 30(4): 177-183; Van Haselen 2008, *Europ J Integr Med* 1(Supl. 1): S46-47; Zenner 1990, *Biological Therapy* 8(3): 49-53). Sin embargo, el mecanismo de acción y la eficacia no están claros.

Sin embargo, sigue existiendo necesidad de composiciones adicionales para tratar y facilitar la cicatrización de heridas.

El problema técnico que subyace la presente invención se puede considerar como la provisión de medios y procedimientos para satisfacer las necesidades antes mencionadas. El problema técnico se resuelve mediante las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones y más adelante en el presente documento.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a una composición para su uso en la cicatrización de heridas, en la que dicha composición comprende *Aranea diadematus*, *Calcium phosphoricum*, *Equisetum hiemale*, *Ferrum jodatium*, *Fumaria officinalis*, *Gentiana lutea*, *Geranium robertianum*, *Levothyroxinum*, *Myosotis arvensis*, *Nasturtium officinale*, *Natrium sulfuricum*, *Pinus silvestris*, *Sarsaparillae radix*, *Scrophularia nodosa*, *Teucrium scorodonia*, y *Veronica officinalis*.

El término "composición" tal como se usa en el presente documento se refiere a una mezcla de extractos derivados de, entre otros, fuentes biológicas tales como plantas que además se definen adicionalmente en otra parte del presente documento. Preferentemente, la dicha composición puede comprender otros ingredientes adicionales y, más preferentemente, comprende un transportador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Preferentemente, dichos ingredientes adicionales pueden ser agentes estabilizadores, agentes humectantes, transportadores farmacéuticos, principios activos farmacéuticos adicionales, agentes para el control de la liberación, y similares. Los diluyentes preferidos abarcan agua, alcoholes, sueros salinos fisiológicos, tampones, tales como sueros salinos tamponados con fosfato, jarabe, aceite, agua, emulsiones, varios tipos de agentes mojantes, y similares. Preferiblemente prevista de acuerdo con la presente invención es una composición que además comprende al menos un transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El transportador o transportadores

deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con el resto de ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos. El transportador farmacéutico utilizado puede incluir un sólido, un gel o un líquido. Son ilustrativos de transportadores sólidos la lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. De manera análoga, el transportador o diluyente puede incluir un material de retraso de la liberación bien conocido en la materia, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo o con una cera. Dichos transportadores adecuados comprenden los mencionados anteriormente y otros bien conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, European Pharmacopeia, Homeopathic Pharmacopeia de EE.UU., o HAB. El diluyente farmacéuticamente aceptable se selecciona de tal forma que no afecte a la actividad biológica de la combinación. Son ejemplos de dichos diluyentes el agua, suero salino fisiológico, solución de Ringer, solución de dextrosa, y solución de Hank. Además, la composición o formulación farmacéutica puede incluir también otros transportadores, adyuvantes o estabilizantes no tóxicos, no terapéuticos, no inmunógenos, y similares.

La composición se deberá adaptar para su uso en el tratamiento de heridas. Por consiguiente, se entenderá que, dependiendo del modo de administración, deseado, la composición se formulará para su aplicación sistémica o tópica. Preferentemente, la composición prevista en el presente documento se formula para su aplicación sistémica o local. Preferentemente, la aplicación por vía oral, por ejemplo, en la forma de comprimidos, solución o ampollas bebibles, está prevista, o la aplicación tópica en una forma de gel o la aplicación mediante inyección. Sin embargo, dependiendo de la naturaleza y del modo de acción, la composición se puede administrar por otras vías tales como la dérmica, intramuscular, subcutánea, oral o la administración intravenosa. La composición, preferentemente, se puede formular en forma de una administración en bolo o se puede fabricar para aplicaciones continuas, como se define detalladamente en otra parte del presente documento. Preferentemente, la composición para su uso de acuerdo con la presente invención se formula como un medicamento como tal como se define detalladamente en otra parte del presente documento.

El término "tratar" como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier mejora en la cicatrización de heridas que puede suceder en un sujeto tratado en comparación con un sujeto sin tratar. Dicha mejora puede ser una prevención del empeoramiento o evolución de la herida. Preferentemente, tratar, sin embargo, se refiere a facilitar el proceso de cicatrización de heridas. Se entenderá que un tratamiento puede no tener éxito para el 100% de los sujetos que se van a tratar. El término, sin embargo, requiere que el tratamiento tenga éxito en una porción estadísticamente significativa de los sujetos (por ejemplo, una cohorte en un estudio de cohortes). El experto en la técnica puede determinar si una porción es estadísticamente significativa sin más dilación, usando diversas herramientas de evaluación estadística conocidas, por ejemplo, la determinación de intervalos de confianza, determinación del valor p, prueba de la t de student, prueba MannWhitney etc. Los detalles se encuentran en Dowdy y Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 97%, al menos un 98% o al menos un 99 %. Los valores de p son, preferentemente, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001.

La expresión "cicatrización de heridas" tal como se usa en el presente documento se refiere a un proceso mediante el cual un tejido se repara a sí mismo después de una lesión. Dependiendo del tipo de tejido implicado, la cicatrización de heridas se puede dividir en diferentes fases, es decir, hemostasia (si se precisa), respuesta inflamatoria, invasión y proliferación y remodelación. Por ejemplo, en el caso de una lesión en la piel, la agregación plaquetaria se produce en una primera fase para generar un coágulo que detenga la hemorragia. En la segunda fase, se produce una respuesta inflamatoria para eliminar los posibles residuos celulares, células necrosadas y bacterias (patógenos) que puedan haber entrado en el cuerpo a través del tejido herido. La siguiente fase proliferativa se caracteriza por la angiogénesis, deposición de colágeno, formación de tejido de granulación, epitelización y contracción de la herida. Finalmente, la fase de remodelación alinea la matriz extracelular, por ejemplo, fibras, de acuerdo con las líneas de tensión en el tejido. Adicionalmente, las células que ya no son necesarias experimentan apoptosis para restaurar un estado de homeostasia del tejido afectado. Una herida, tal como se hace referencia de acuerdo con la presente invención, puede ser el resultado de todos los tipos de lesiones en los tejidos, resultante tanto de fuerzas aplicadas externamente, cirugía o causas internas, por ejemplo, intoxicación de determinadas células o tejido.

Preferentemente, la composición a aplicar de acuerdo con la presente invención modula los mecanismos inflamatorios durante el proceso de cicatrización de heridas dirigiendo la infiltración de las células inmunitarias, tanto directa como indirectamente. Existen dos tipos de células del sistema inmunitario que están principalmente implicadas en la fase de inflamación, concretamente, los leucocitos polimorfonucleares (PMN) y los macrófagos. Los PMN en una etapa inicial de la fase se atraen por y hacia el tejido lesionado mediante citoquinas y la matriz extracelular alterada. En un estado posterior de la fase de respuesta inflamatoria, los residuos celulares, células necróticas y bacterias experimentan fagocitosis por los macrófagos. Se ha demostrado que la composición del material fagocitado modula la población de macrófagos mediante la secreción de citoquinas y factores de crecimiento, induce la siguiente fase de la cicatrización de heridas, es decir, la fase de proliferación que incluye la invasión de fibroblastos y la diferenciación, así como la angiogénesis. Una hipótesis del mecanismo de acción relativa al proceso de cicatrización de heridas se describe en otra parte del presente documento.

Los síntomas y características de la cicatrización de heridas también son bien conocidas de los expertos en la materia, y se describen más detalladamente en los libros de texto de medicina habituales, tales como Stedman o

Pschyrembl.

- Las plantas a las que se hace referencia en la presente invención, es decir, Equisetum hiemale, Fumaria officinalis, Gentiana lutea, Geranium robertianum, Myosotis arvensis, Nasturtium officinale, Pinus silvestris, Sarsaparillae radix, Scrophularia nodosa, Teucrium scorodonia, Veronica officinalis, son bien conocidas para el experto en la materia, y están caracterizadas en botánica. Por consiguiente, las citadas plantas, como material de partida para preparar la composición de acuerdo con la presente invención, se pueden identificar, cultivar y/o cosechar sin más explicaciones. Por ejemplo, las plantas se pueden obtener haciendo crecer plántulas en desarrollo en el invernadero en condiciones normalizadas de humedad, temperatura e iluminación, para conseguir plantas, cultivar dichas plantas durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la producción de metabolitos secundarios de la planta, y recoger las plantas o partes de las mismas necesarias para el procedimiento de extracción definido en otra parte del presente documento. Adicionalmente, las citadas plantas, como material de partida para preparar la composición de acuerdo con la presente invención, preferentemente, también se pueden obtener a partir de la cosecha de plantas silvestres. En este caso, las plantas se identifican usando procedimientos de ensayo microscópicos y macroscópicos.
- Otros componentes de la composición son también sustancias químicas conocidas en aplicaciones homeopáticas, tales como Calcium phosphoricum Ferrum jodatum, Levothyroxinum, Natrium sulfuricum, o extractos derivados de animales, tales como los procedentes de Aranea diadematus (araña de la cruz, animal completo). Igualmente, estos componentes, especialmente como ingredientes homeopáticos, son bien conocidos de los expertos en la materia.

Preferentemente, la composición de acuerdo con la presente invención comprende los citados componentes en las siguientes formulaciones homeopáticas:

- i) Aranea diadematus dilución D6;
- ii) Calcium phosphoricum dilución D12;
- iii) Equisetum hiemale ex herba re dilución D4;
- iv) Ferrum jodatum dilución D12;
- v) Fumaria officinalis dilución D4;
- vi) Gentiana lutea dilución D5;
- vii) Geranium robertianum dilución D4;
- viii) Levothyroxinum dilución D12;
- ix) Myosotis arvensis dilución D3;
- x) Nasturtium officinale dilución D4;
- xi) Natrium sulfuricum dilución D4;
- xii) Pinus silvestris dilución D4;
- xiii) Sarsaparillae radix dilución D6;
- xiv) Scrophularia nodosa dilución D3;
- xv) Teucrium scorodonia dilución D3; y
- xvi) Veronica officinalis dilución D3.

Más preferentemente, dichas formulaciones se pueden obtener de la siguiente forma.

La expresión "Aranea diadematus dilución D6" tal como se refiere en el presente documento se refiere a una dilución de Aranea diadematus que consiste en arañas de la cruz vivas, es decir, Araneus diadematus CLERCK. La coloración básica de dichas criaturas es principalmente marrón claro, pero este color puede variar ampliamente dependiendo del entorno. La araña de la cruz obtiene su nombre de las marcas blancas en forma de cruz sobre el fondo marrón claro u oscuro del opistosoma, que es la mitad anterior brillante del abdomen. Se puede obtener una tintura madre de este material según el procedimiento de la European Pharmacopoeia 1.1.9 resp. 4b de la German Homoeopathic Pharmacopoeia usando etanol como vehículo. 1 parte de animales vivos se anestesia en un matraz adecuado usando dióxido de carbono. Los animales se transfieren a una placa de porcelana y se matan con una parte de etanol (90% v/v). Las criaturas se trituran con un mortero. A continuación, se añade etanol suficiente (90% V/V) para llevar la cantidad total añadida hasta 10 partes en peso. Se pueden triturar cantidades mayores con una mezcladora. La preparación se transfiere a un recipiente que se puede cerrar y se deja a una temperatura no superior a 20 °C durante un mínimo de 14 días antes de agitarse repetidamente. Finalmente, la mezcla se pasa por un filtro. Según el procedimiento 1.1.9 de la European Pharmacopoeia resp. 4b de la German Homoeopathic Pharmacopoeia, se llevan a cabo las diluciones 2ª y 3ª (D2 y D3) usando etanol (90% V/V) y la 4ª dilución decimal (D4) usando etanol (70% V/V). Partiendo de la producción de la dilución D2, usando siempre 1 parte de la dilución de la etapa superior concentrada y 9 partes de etanol. Preferentemente, la tintura madre de Aranea diadematus a usar en la composición de acuerdo con la presente invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en la dilución D6 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D6 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Calcium phosphoricum dilución D12" tal como se usa en el presente documento se refiere a una dilución de Calcium phosphoricum que se puede obtener según la correspondiente monografía de la European

Pharmacopoeia. Calcium phosphoricum es un polvo cristalino de color blanco a casi blanco. Es prácticamente insoluble en agua y etanol (96 %). Se disuelve en ácido clorhídrico diluido y en ácido nítrico diluido. El hidrogenofosfato de calcio (CaHPO_4) se produce en una reacción de neutralización entre el ácido fosfórico (H_3PO_4) e hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Se añade una cantidad adecuada de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) al ácido fosfórico térmico (H_3PO_4). La mezcla se enfría para precipitar el hidrogenofosfato de calcio dihidratado ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). El precipitado se elimina por filtración y se seca suavemente. La dilución sólida D1 (trituration) se puede obtener según el procedimiento 4.1.1 de la European Pharmacopoeia resp. 6 de la German Homoeopathic Pharmacopoeia usando lactosa monohidrato como vehículo. El material de partida se tritura y se tamiza antes de dividirlo en tres partes. El primer tercio del vehículo se tritura. El material de partida se añade al vehículo triturado. La mezcla se tritura y se raspa. A continuación, se añaden las dos porciones iguales del vehículo restante, se trituran y se rascan. Se obtiene una trituration D2 mezclando 1 parte de trituration D1 de Calcium phosphoricum con 9 partes de lactosa monohidrato. Las trituraciones decimales de la tercera a la sexta se producen en consecuencia. Una parte de la trituration D6 posteriormente se disuelve en 9 partes de agua purificada y se somete a sucusión para obtener la dilución D7. Esta etapa se lleva a cabo según el procedimiento 3.2.1 de la Ph. Eur. resp. del procedimiento 8a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Para obtener la dilución D8, una parte de la dilución D7 se potencia con 9 partes de etanol 30 % (m/m). La siguiente etapa de potenciación para obtener la dilución D9 se realiza usando etanol del 43 % (m/m). La 10ª dilución decimal se produce en consecuencia. Preferentemente, el Calcium phosphoricum a usar en la composición de acuerdo con la presente invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D12 y en una porción de aproximadamente 0,05 % (0,55 mg de dilución D12 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Equisetum hiemale D4 ex herba re dilution" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de Equisetum hiemale a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de Equisetum hiemale es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.3 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 2a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de Equisetum hiemale a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de la planta entera fresca de Equisetum hiemale L. que contiene menos del 70% de zumo exprimido y más del 60% de humedad (pérdida tras secado) y no contiene aceite esencial o resina. Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo) dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 2 partes de la tintura madre se premezclan con 8 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D1. 1 parte de la dilución D1 se premezcla con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Las diluciones decimales posteriores se producen como se ha indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de Equisetum hiemale a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Ferrum iodatum dilución D12" tal como se usa en el presente documento se refiere a una dilución de Ferrum iodatum que es un producto de reacción de hierro y yodo secado sobre lactosa que contiene no menos de 15,0 y no más de un 25,0 por ciento de FeI_2 cuando se calcula con referencia a la sustancia anhidra. Verter 10 partes de agua sobre 3 partes de Ferrum metallicum y añadir gradualmente 8 partes de yodo. Dejar que la mezcla en reposo durante 15 horas durante la noche, hervir hasta que la solución se vuelve de un color verde transparente, y filtrar la solución obtenida sobre 40 partes de lactosa. Secar al vacío durante 24 horas a temperatura ambiente. Mezclar la masa completamente varias veces mientras se está secando. A continuación, triturar la mezcla. La dilución D2 (trituration) sólida se puede obtener según el procedimiento 4.1.1 de la Ph. Eur. resp. 6 de la German Homoeopathic Pharmacopoeia usando lactosa monohidrato como vehículo. El material se potencia dos veces para obtener una dilución D2. Se obtienen diluciones líquidas adicionales de acuerdo con el procedimiento 3.2.1 de la Ph. Eur. resp. al procedimiento 8a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia usando agua purificada o etanol de diferentes concentraciones. Las diluciones se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: Se obtiene una trituration D3 mezclando 1 parte de trituration D2 de Ferrum iodatum con 9 partes de lactosa monohidrato. Las trituraciones decimales de la cuarta a la sexta se producen en consecuencia. Una parte de la

trituration D6 posteriormente se disuelve en 9 partes de agua purificada y se somete a sucusión para obtener la dilución D7. Esta etapa se lleva a cabo según el procedimiento 3.2.1 de la Ph. Eur. resp. del procedimiento 8a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Para obtener la dilución D8, una parte de la dilución D7 se potencia con 9 partes de etanol 30 % (m/m). La siguiente etapa de potenciación para obtener la dilución D9 se realiza usando etanol del 43 % (m/m). La 10ª dilución decimal se produce en consecuencia. Preferentemente, el Ferrum iodatum a usar en la composición de acuerdo con la presente invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. Tras mezclar la dilución con el resto de diluciones y potenciar dos veces, el Ferrum iodatum está comprendido en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D12 y en una porción de aproximadamente 0,1% (1,1 mg de dilución D12 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Fumaria officinalis dilución D4" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de Fumaria officinalis a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de Fumaria officinalis es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.3 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 2a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de Fumaria officinalis a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes aéreas frescas de Fumaria officinalis en el momento de la floración que contiene menos del 70% de zumo exprimido y más del 60% de humedad (pérdida tras secado) y no contiene aceite esencial o resina. Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se Trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo) dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 2 partes de la tintura madre se premezclan con 8 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D1. 1 parte de la dilución D1 se premezcla con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Las diluciones decimales posteriores se producen como se ha indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de Fumaria officinalis a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Gentiana lutea dilución D5" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de Gentiana lutea a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de Gentiana lutea es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.5 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 3a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de Gentiana lutea a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes subterráneas frescas de Gentiana lutea L. que contiene resina de aceite esencial re, o generalmente menos del 60% de humedad (pérdida durante el secado). Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se Trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo), multiplicada por un factor de 2 y dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 3 partes de la tintura madre se premezclan con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. 1 parte de la dilución D1 se premezcla con 9 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D2. Las diluciones decimales posteriores se producen como se ha indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de Gentiana lutea a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D5 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D5 en una ampolla de

1,1 g).

La expresión "Geranium robertianum dilución D4" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de Geranium robertianum a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de Geranium robertianum es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.3 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 2a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de Geranium robertianum a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes aéreas frescas de Equisetum hiemale L. en el momento de la floración que contiene menos del 70% de zumo exprimido y más del 60% de humedad (pérdida tras secado) y no contiene aceite esencial o resina. Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo) dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 2 partes de la tintura madre se premezclan con 8 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D1. 1 parte de la dilución D1 se premezcla con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Las diluciones decimales posteriores se producen como se ha indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de Geranium robertianum a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una porción del 1,1 % (m/m) (1,10 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Levothyroxinum dilución D12" tal como se usan en el presente documento, se refiere a una dilución de Levothyroxinum que contiene no menos de 97,0 y no más del 102,0 por ciento de ácido (S)-2-amino-3-[4-(4-hidroxi-3,5-diyodofenoxi)-3,5-diyodofenil]-propiónico cuando se calcula con referencia a la sustancia anhidra. Es un producto de reacción de 3,5-diyodo-L-tironina que se yoda para dar el compuesto intermedio 3,3',5,5'-tetrayodo-L-tironina. El ácido libre se obtiene por humectación con etanol. Después de un procedimiento de secado y mezclado, el producto final está disponible. La dilución sólida D1 (trituration) se puede obtener según el procedimiento 4.1.1 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 6 de la German Homoeopathic Pharmacopoeia y la monografía correspondiente de la propia empresa usando lactosa monohidrato como vehículo. El material de partida se tritura y se tamiza antes de dividirlo en tres partes. El primer tercio del vehículo se tritura. El material de partida se añade al vehículo triturado. La mezcla se tritura y se raspa. A continuación, se añaden las dos porciones iguales del vehículo restante, se trituran y se rascan. Se obtiene una trituration D2 mezclando 1 parte de trituration D1 de Levothyroxinum con 9 partes de lactosa monohidrato. Las triturations decimales de la tercera a la sexta se producen en consecuencia. Una parte de la trituration D6 posteriormente se disuelve en 9 partes de agua purificada y se somete a sucusión para obtener la dilución D7. Esta etapa se lleva a cabo según el procedimiento 3.2.1 de la Ph. Eur. resp. del procedimiento 8a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Para obtener la dilución D8, una parte de la dilución D7 se potencia con 9 partes de etanol 30 % (m/m). La siguiente etapa de potenciación para obtener la dilución D9 se realiza usando etanol del 43 % (m/m). La 10ª dilución decimal se produce en consecuencia. Preferentemente, el Levothyroxinum a usar en la composición de acuerdo con la presente invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, el Levothyroxinum está comprendido en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D12 y en una porción de aproximadamente 0,05 % (0,55 mg de dilución D12 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Myosotis arvensis dilución D3" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de Myosotis arvensis a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de Myosotis arvensis es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.5 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 3a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de Myosotis arvensis a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes aéreas frescas de Myosotis arvensis a L. en el momento de la floración que contiene resina de aceite esencial re, o generalmente menos del 60% de humedad (pérdida durante el secado). Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de

pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo), multiplicada por un factor de 2 y dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V).

La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 3 partes de la tintura madre se premezclan con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Myosotis arvensis* a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Nasturtium officinale dilución D4" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Nasturtium officinale* a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de *Nasturtium officinale* es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.5 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 3a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido en la materia. Preferentemente, el extracto de *Nasturtium officinale* a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes aéreas frescas de *Nasturtium officinale* R. Br. en el momento de la floración que contiene resina de aceite esencial re, o generalmente menos del 60% de humedad (pérdida durante el secado). Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo), multiplicada por un factor de 2 y dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 3 partes de la tintura madre se premezclan con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. 1 parte de la dilución D1 se premezcla con 9 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D2. Las diluciones decimales posteriores se producen como se ha indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Nasturtium officinale* a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una porción del 1,1 % (m/m) (1,10 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Natrium sulfuricum dilución D4" tal como se usan en el presente documento, se refiere a una dilución de *Natrium sulfuricum* que se puede obtener de acuerdo con la correspondiente monografía de la European Pharmacopoeia como un producto de la reacción entre cloruro sódico y ácido correspondiente que contiene de 98,5 al 101,0 por ciento en peso de *Natrium sulfuricum*. El sulfato de sodio (Na_2SO_4) se produce a partir de cloruro sódico (NaCl) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) en un horno enfriado con agua. El sulfato de sodio hidratado ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) precipita. El producto se elimina por filtración y se purifica mediante recristalización en agua. El sulfato de sodio hidratado ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) se seca térmicamente a continuación. La dilución D1 (líquido) se puede obtener según el procedimiento 3.1.1 de la Ph. Eur. resp. 5a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia usando etanol como vehículo. Puesto que el material tiene una solubilidad insuficiente, la dilución D2 se produce directamente. 1 parte del material de partida se disuelve en 99 partes de etanol (18% V/V). Preferentemente, el *Natrium sulfuricum* a usar en la composición de acuerdo con la presente invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. Tras mezclar la dilución con el resto de diluciones y potenciar dos veces, el *Natrium sulfuricum* está comprendido en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una porción de aproximadamente 0,05 % (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "Pinus silvestris dilución D4" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Pinus silvestris* a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de *Pinus silvestris* es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.5 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 3a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de *Pinus silvestris* a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una

tintura madre a partir de brotes frescos de *Pinus silvestris* L. de hasta 50 mm de longitud, recogidos durante temporada de crecimiento. El material contiene resina de aceite esencial re, o por lo general, menos del 60% de humedad (pérdida durante el secado). Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo), multiplicada por un factor de 2 y dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 3 partes de la tintura madre se premezclan con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. 1 parte de la dilución D1 se premezcla con 9 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D2. Las diluciones decimales posteriores se producen como se ha indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Pinus silvestris* a utilizar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza por los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Sarsaparillae radix* dilución D6" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Sarsaparillae radix* (*Smilax*) a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de *Sarsaparillae radix* es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.8 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 4a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. El procedimiento se utiliza de manera general para los fármacos herbáceos secos. Preferentemente, el extracto de *Smilax* a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes subterráneas secas de *Smilax regelii* Kill. Et C.V. Morton y *Smilax medica* Schlechtend. et Cham. u otras especies relacionadas. El macerado se prepara mezclando 1 parte de la planta seca triturada con 10 partes de etanol de la concentración adecuada (70% V/V). La mezcla se deja reposar en un recipiente cerrado durante un mínimo de 10 días a una temperatura que no supere 25 °C. Tras la maceración, el disolvente de extracción se separa del residuo por decantación. Si es necesario, el residuo se prensa. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de macerado (kg) multiplicada por la diferencia de [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo según sea necesario en la monografía individual] - [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo del filtrado]. La cantidad calculada de etanol se mezcla con el filtrado. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. La tintura madre corresponde a la primera dilución decimal (D1). Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 1 partes de la tintura madre se premezclan con 9 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D2. La 3ª dilución decimal se produce en consecuencia. La 4ª dilución decimal se produce usando etanol (50% V/V) como vehículo. Preferentemente, la tintura madre de *Smilax silvestris* a utilizar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza por los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D6 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D6 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Scrophularia nodosa* dilución D3" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Scrophularia nodosa* a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de *Scrophularia nodosa* es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.5 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 3a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de *Scrophularia nodosa* a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes aéreas frescas de *Scrophularia nodosa* L. en el momento de la floración que contiene resina de aceite esencial re, o generalmente menos del 60% de humedad (pérdida durante el secado). Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo), multiplicada por un factor de 2 y dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía]

dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 3 partes de la tintura madre se premezclan con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Scrophularia nodosa* a utilizar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza por los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Teucrium scorodonia* dilución D3" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Scrophularia nodosa* a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de *Teucrium scorodonia* es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.5 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 3a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de *Teucrium scorodonia* a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes aéreas frescas de *Teucrium scorodonia* L. en floración que contiene resina de aceite esencial re, o generalmente menos del 60% de humedad (pérdida durante el secado). Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo), multiplicada por un factor de 2 y dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 3 partes de la tintura madre se premezclan con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Teucrium scorodonia* a utilizar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza por los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Veronica officinalis* dilución D3" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Veronica officinalis* a utilizar en la preparación de la composición de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de *Veronica officinalis* es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.3 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 2a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de *Veronica officinalis* a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de las partes aéreas frescas de *Veronica officinalis* en el momento de la floración que contiene menos del 70% de zumo exprimido y más del 60% de humedad (pérdida tras secado) y no contiene aceite esencial o resina. Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo) dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 2 partes de la tintura madre se premezclan con 8 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Veronica officinalis* a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. La dilución se mezcla con el resto de las diluciones. Después de dos potenciaciones de la mezcla de las diluciones, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición para usar de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

Preferentemente, la composición a aplicar de acuerdo con la presente invención se prepara premezclando los

ingredientes anteriormente mencionados de la siguiente forma: Para una ampolla 1,1 g, Aranea diadematus dilución D6 (0,55 mg), Calcium phosphoricum dilución D12 (0,55 mg), Equisetum hiemale ex herba re dilución D4 (0,55 mg), Ferrum jodatum dilución D12 (1,10 mg), Fumaria officinalis dilución D4 (0,55 mg), Gentiana lutea dilución D5 (0,55 mg), Geranium robertianum dilución D4 (1,10 mg), Levothyroxinum dilución D12 (0,55 mg), Myosotis arvensis dilución D3 (0,55 mg), Nasturtium officinale, dilución D4 (1,10 mg), Natrium sulfuricum dilución D4 (0,55 mg), Pinus silvestris dilución D4 (0,55 mg), Sarsaparillae radix dilución D6 (0,55 mg), Scrophularia nodosa dilución D3 (0,55 mg), Teucrium scorodonia dilución D3 (0,55 mg) y Veronica officinalis dilución D3 (0,55 mg) se mezclaron entre sí según el Procedimiento 16 del Organon of Homeopathy ("Homoopathisches Arzneibuch" HAB), edición 2011. La mezcla obtenida se potencia dos veces con agua para inyección según el Procedimiento 11 de HAB en combinación con el Procedimiento 5.1.1, Ph. Eur./40a, HAB. En la siguiente etapa, la mezcla potenciada se mezcla con agua para inyección según el Procedimiento 16, HAB. Para ajustar la osmolaridad del producto, se añade cloruro de sodio y se disuelve por mezclado. Tras liberación, el producto a granel se filtra al interior de una bolsa estéril de un solo uso usando un filtro Thyrus con un tamaño promedio de poro de las membranas de 0,2 µm y se rellenó con una llenadora en ampollas de vidrio. Las ampollas se esterilizan en esterilizadores en grandes cámaras esterilizadoras según la Ph. Eur. Etiquetado de las ampollas con etiquetas autoadherentes (aplicación térmica) usando etiquetadoras.

Más preferentemente, una composición que se pueden utilizar para tratar heridas de acuerdo con la presente invención es la composición Lymphomyosot N®. Preferentemente, dicha Lymphomyosot N® se puede aplicar en la dosis homeopática recomendada.

Más preferentemente, Lymphomyosot N® se puede aplicar en una dosificación que es al menos aproximadamente 9 veces superior a la dosis actualmente recomendada para las aplicaciones homeopáticas. Más preferentemente, la dosis es al menos 10, al menos 12, al menos 14, al menos 16 y al menos 18 veces superior a la dosificación recomendada anteriormente mencionada. Más preferentemente, la dosificación está comprendida entre aproximadamente 9 y aproximadamente 18, además, de forma preferente, aproximadamente 9 y aproximadamente 17,5, aproximadamente 10 y aproximadamente 16, aproximadamente 12 y aproximadamente 15 veces mayor que la dosificación recomendada anteriormente mencionada.

La dosificación recomendada individualmente precisa, en principio, puede depender de parámetros adicionales bien conocidos de los expertos en la materia. Por ejemplo, los niños pueden recibir una dosificación diferente en comparación con los adultos. El experto en la técnica puede determinar sin problemas si la dosificación debe adaptarse mediante el uso de diferentes herramientas de cálculo bien conocidas.

La composición deberá formularse y/o utilizarse o administrarse de una forma que proporcione los componentes en las diluciones anteriormente mencionadas al sujeto en una dosificación correspondiente a una dosificación de al menos aproximadamente 0,125 a 0,25 ml/kg de peso corporal de sujeto en días alternos. La dosis experimental más baja utilizada en ratones fue de 9 a 17,5 veces mayor que el uso homeopático convencional en seres humanos que se ha definido en otra parte del presente documento. Por lo tanto, suponiendo un peso corporal de 20 a 40 g por ratón, Lymphomyosot N® se aplicó de 0,125 a 0,25 ml/kg en días alternos. La dosis de tratamiento equivalente en un ser humano que tenga un peso corporal de aproximadamente 70 kg sería un mínimo de 9 a 17,5 ml en días alternos. Preferentemente, la dosificación anteriormente mencionada se puede proporcionar mediante una única administración (bolo) o se puede conseguir mediante más de una etapas de administración a lo largo del día. Además, también se pretende que la dosis, preferentemente, se proporcione utilizando dispositivos de liberación continua que proporcionan una administración continuo de la dosificación durante el día. De qué forma se puede formular la composición de forma correcta para proporcionar la dosificación diaria anteriormente mencionada es algo bien conocido en la materia. Por ejemplo, las composiciones que proporcionan dosificaciones bajas que comprenden los ingredientes de la composición de la presente invención y, preferentemente, la composición comercialmente disponible Lymphomyosot N®, se pueden administrar repetidamente y/o con otro esquema de administración, por ejemplo, diariamente, y, de esta manera, proporcionar la dosis necesaria. Como alternativa, se puede proporcionar una composición que esté enriquecida en los ingredientes individuales. Dicha composición proporcionaría, preferentemente, la dosis tras una única administración en bolo.

Como se ha descrito anteriormente, la composición de la presente invención puede abarcar también ingredientes adicionales tales como principios farmacéuticamente activos adicionales. Se pretende preferentemente una composición de acuerdo con la invención como se ha descrito anteriormente. Dicho principio farmacéuticamente activo adicional es Juglans regia u otra especie de Juglans. Más preferentemente, se utiliza una Juglans regia dilución D3used. Dichos ingredientes adicionales pueden estar incluidos en la propia composición, es decir, ser un componente de la mezcla, o se pueden formular para una aplicación combinada en forma de una entidad físicamente independiente tal como la composición actual para tratar la cicatrización de heridas que se forma realmente durante el procedimiento de administración combinada en el sujeto.

La expresión "Juglans regia dilución D3" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de Juglans regia fructus cortex/folia a utilizar en la preparación de la composición para usar de acuerdo con la presente invención. Dicha dilución de Juglans regia es un extracto alcohólico que se puede obtener según el procedimiento 1.1.5 de la European Pharmacopoeia resp. el procedimiento 3a de la German Homoeopathic Pharmacopoeia. Cómo llevar a cabo el procedimiento es algo bien conocido por los expertos en la materia. Preferentemente, el extracto de

Juglans regia a utilizar de acuerdo con la composición de la presente invención se prepara de la siguiente forma: Se obtiene una tintura madre a partir de la peladura verde fresca del fruto y las hojas de Juglans regia L. ssp. Regia que contiene resina de aceite esencial re, o generalmente menos del 60% de humedad (pérdida durante el secado). Los materiales herbáceos adecuados posteriormente se trituran, se premezclan con una cantidad de etanol 90 % (v/v) para no menos de la mitad de la masa del material herbáceo. La cantidad precisa de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de material herbáceo (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida durante el secado (esto se puede determinar analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material herbáceo), multiplicada por un factor de 2 y dividida por 100. La mezcla se almacena posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante al menos diez días, con agitación de vez en cuando. La mezcla es la expresada, y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente forma: Masa del filtrado (kg) multiplicada por [porcentaje de residuo seco o porcentaje del contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido por [el porcentaje de residuo seco o contenido requerido por el ensayo según la monografía]. La mezcla ajustada se dejó reposar a temperatura ambiente (que no supere los 20°C) durante un mínimo de 5 días y, opcionalmente, se volvió a filtrar para producir la tintura madre. Las diluciones D de la tintura madre se pueden realizar aplicando el siguiente esquema de dilución: 3 partes de la tintura madre se premezclan con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de Juglans regia a usar en la composición de acuerdo con la invención se caracteriza mediante los parámetros analíticos definidos en la correspondiente monografía. Tras mezclar la dilución con el resto de diluciones y potenciar dos veces, la tintura madre anteriormente mencionada está incluida en la composición para usar de acuerdo con la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una porción del 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

Ventajosamente, se ha descubierto de acuerdo con la presente invención que una composición que comprende los ingredientes anteriormente mencionados, por lo general, se puede aplicar para el tratamiento eficaz y mejorado de heridas. En particular, la composición aparentemente está bien adecuada para facilitar la cicatrización de heridas. Además, se ha descubierto sorprendentemente que la composición para usar de acuerdo con la invención, a diferencia de las indicaciones médicas conocidas diferentes a la cicatrización de heridas, actúa especialmente bien a concentraciones que superan las dosificaciones homeopáticas utilizadas en las indicaciones conocidas. En particular, una dosis eficaz de acuerdo con la presente invención era aproximadamente de 9 a 17,5 (5 µl) hasta 44 a 87,5 (25 µl) veces la dosificación utilizada en aplicaciones homeopáticas, es decir, una dosis elevada. En los estudios que respaldan la presente invención, se ha descubierto que Lymphomyosot N® redujo la hinchazón en los tejidos en un modelo en cola de ratón secundario a linfodema y cicatrización de heridas aumentando la cicatrización de la herida y/o modulando el número de macrófagos inflamatorios. Aunque la hinchazón de la cola de ratón está causada por la desconexión de la red linfática de la cola, la reducción en la hinchazón alcanzada por Lymphomyosot N® no estuvo mediada por la linfangiogénesis de vasos capilares. De hecho, se ha descubierto que Lymphomyosot N® no aumenta la linfangiogénesis en modelos in vivo de regeneración de los vasos capilares y linfáticos. Por lo tanto, Lymphomyosot N® puede actuar para reducir la hinchazón de tejidos en seres humanos aumentando la reparación de la herida y/o modulando la inflamación. Los resultados sugieren que Lymphomyosot N® puede ser eficaz para tratar la cicatrización de heridas en seres humanos si el tratamiento farmacológico se aplica inmediatamente después de la herida para modular la inflamación y ayudar en la cicatrización de heridas. Además, se ha descubierto también de acuerdo con la presente invención que Lymphomyosot N® tiene el potencial para acelerar la cicatrización de heridas y/o el proceso de resolución de la inflamación.

La presente invención también contempla un medicamento que comprende una composición que comprende Aranea diadematus, Calcium phosphoricum, Equisetum hiemale, Ferrum jodatum, Fumaria officinalis, Gentiana lutea, Geranium robertianum, Levothyroxinum, Myosotis arvensis, Nasturtium officinale, Natrium sulfuricum, Pinus silvestris, Sarsaparillae radix, Scrophularia nodosa, Teucrium scorodonia, y Veronica officinalis, y en el que dicha composición comprende dichos componentes en las siguientes formulaciones homeopáticas

- i) Aranea diadematus dilución D6;
- ii) Calcium phosphoricum dilución D12;
- iii) Equisetum hiemale ex herba re dilución D4;
- iv) Ferrum jodatum dilución D12;
- v) Fumaria officinalis dilución D4;
- vi) Gentiana lutea dilución D5;
- vii) Geranium robertianum dilución D4;
- viii) Levothyroxinum dilución D12;
- ix) Myosotis arvensis dilución D3;
- x) Nasturtium officinale dilución D4;
- xi) Natrium sulfuricum dilución D4;
- xii) Pinus silvestris dilución D4;
- xiii) Sarsaparillae radix dilución D6;
- xiv) Scrophularia nodosa dilución D3;
- xv) Teucrium scorodonia dilución D3; y
- xvi) Veronica officinalis dilución D3,

y

en la que dicha composición a administrar proporciona la composición en una cantidad correspondiente a la cantidad proporcionada por al menos aproximadamente de 0,125 a 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto que se va a tratar en días alternos. Preferentemente, dicha composición proporciona cada ingrediente bien en una cantidad de tintura madre potenciada (columna: "cantidad de potencia") o en una cantidad de tintura madre (columna: "cantidad de tintura madre") como se indica en la Tabla 1, a continuación.

Tabla 1: Cantidades de ingredientes en Lymphomyosot N®

Ingrediente	Potencia	Cantidad de potencia en peso	Cantidad de tintura madre en peso
Myosotis arvensis	D3	0,55 mg	1,65 µg
Veronica officinalis	D3	0,55 mg	1,1 µg
Teucrium scorodonia	D3	0,55 mg	1,65 µg
Pinus sylvestris	D4	0,55 mg	0.165 µg
Gentiana lutea	D5	0,55 mg	0,0165 µg
Equisetum hiemale	D4	0,55 mg	0,11 µg
Smilax	D6	0,55 mg	0,0055 µg
Scrophularia nodosa	D3	0,55 mg	1,65 µg
Calcium phosphoricum	D12	0,55 mg	0,55 x 10 ⁻¹² µg
Natrium sulfuricum	D4	0,55 mg	0,055 µg
Fumaria officinalis	D4	0,55 mg	0,11 µg
Levothyroxinum	D12	0,55 mg	0,55 x 10 ⁻¹² µg
Aranea diadema	D6	0,55 mg	0,0055 µg
Geranium robertianum	D6	1,1 mg	0,0022 µg
Nasturtium officinale	D4	1,1 mg	0,33 µg
Ferrumjodatum	D12	1,1 mg	1,1 x 10 ⁻¹² µg

Nota: Las cantidades de tintura madre potenciada, o de tintura madre, se calculan para una ampolla de 1,1 g.

El término "medicamento" tal como se usa en el presente documento, se refiere a una composición farmacéutica que contiene los ingredientes mencionados anteriormente en una dosis terapéuticamente eficaz tal como se menciona en otra parte del presente documento y, preferentemente, en un transportador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. El medicamento se puede formular para diferentes rutas de administración definidas con más detalle en otra parte del presente documento. Una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a las cantidades de los ingredientes a utilizar en un medicamento para tratar la cicatrización de heridas. La eficacia terapéutica y la toxicidad del compuesto se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población) y la DL50 (la dosis es letal para el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como el cociente, DL50/DE50. El médico a cargo del paciente y otros factores clínicos determinarán la pauta terapéutica. Como es bien sabido en la técnica médica, las dosis de cualquier paciente dependerán de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente, área de la superficie corporal, la edad, el compuesto particular a administrar, el sexo, tiempo y vía de administración, el estado de salud general, y otros fármacos administrados paralelamente. El progreso se puede controlar mediante evaluación periódica. Las dosificaciones específicas citadas en la presente memoria descriptiva se calcular para un sujeto de edad intermedia y peso medio (aproximadamente 70 kg).

Medicamentos específicos basados en la composición de acuerdo con la invención se preparan de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica, y comprenden los principios activos citados anteriormente en el presente documento en premezcla u otra asociación con al menos un transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Para fabricar estos medicamentos específicos, los principios activos normalmente se mezclan y, opcionalmente, se combinan con un transportador o diluyente. Las formulaciones resultantes se deben adaptar al modo de administración. Los procedimientos para formular un medicamento tal como se cita en el presente documento pueden implicar mezclado, granulación, compresión, o disolución de los ingredientes según sea adecuado para formar la composición deseada. Se apreciará que la forma y carácter del transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable está determinada por la cantidad de principio activo con el que se combina, la vía de administración, y otras variables bien conocidas. Las recomendaciones de dosificación se deberán indicar en las prescripciones o instrucciones a los usuarios para prever ajustes de la dosis dependiendo del receptor en cuestión. Finalmente, se debe entender que la formulación de una composición de acuerdo con la invención como medicamento se produce en condiciones normalizadas GMP o similares para garantizar la calidad, la seguridad farmacéutica, y la eficacia del medicamento.

La presente invención se refiere también a un procedimiento para la fabricación de un medicamento, preferentemente, para tratar la cicatrización de heridas que comprende las etapas de:

- (a) preparar una composición que comprende *Aranea diadematus*, *Calcium phosphoricum*, *Equisetum hiemale*, *Ferrum jodatum*, *Fumaria officinalis*, *Gentiana lutea*, *Geranium robertianum*, *Levothyroxinum*, *Myosotis arvensis*, *Nasturtium officinale*, *Natrium sulfuricum*, *Pinus sylvestris*, *Sarsaparillae radix*, *Scrophularia nodosa*, *Teucrium scorodonia*, y *Veronica officinalis*; y

(b) formular dicha composición en forma de un medicamento de una manera farmacéuticamente aceptable.

Cómo preparar los componentes anteriormente mencionados se ha definido con más detalle en otra parte del presente documento. Además, ya se ha descrito cómo la composición se puede formular en forma de medicamento para proporcionar la dosis prevista anterior. Preferentemente, la composición formulada como medicamento comprende los citados componentes en las siguientes formulaciones

- 5
- i) Aranea diadematus dilución D6;
 - ii) Calcium phosphoricum dilución D12;
 - iii) Equisetum hiemale ex herba re dilución D4;
 - 10 iv) Ferrum jodatum dilución D12;
 - v) Fumaria officinalis dilución D4;
 - vi) Gentiana lutea dilución D5;
 - vii) Geranium robertianum dilución D4;
 - viii) Levothyroxinum dilución D12;
 - 15 ix) Myosotis arvensis dilución D3;
 - x) Nasturtium officinale dilución D4;
 - xi) Natrium sulfuricum dilución D4;
 - xii) Pinus silvestris dilución D4;
 - xiii) Sarsaparillae radix dilución D6;
 - 20 xiv) Scrophularia nodosa dilución D3;
 - xv) Teucrium scorodonia dilución D3; y
 - xvi) Veronica officinalis dilución D3.

Preferentemente, la composición formulada como medicamento por el procedimiento de la invención proporciona la composición en una cantidad correspondiente a la cantidad proporcionada por al menos aproximadamente de 0,125 a 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto que se va a tratar en días alternos.

- 25 Finalmente, la presente invención abarca un procedimiento para tratar heridas estimulando la cicatrización de heridas en un sujeto que padece las mismas, dicho procedimiento comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz a dicho sujeto de una composición que comprende Aranea diadematus, Calcium phosphoricum, Equisetum hiemale, Ferrum jodatum, Fumaria officinalis, Gentiana lutea, Geranium robertianum, Levothyroxinum, Myosotis arvensis, Nasturtium officinale, Natrium sulfuricum, Pinus silvestris, Sarsaparillae radix, Scrophularia nodosa, Teucrium scorodonia, y Veronica officinalis.
- 30

Cómo administrar la composición a la que se hace referencia en lo anterior ya se ha descrito detalladamente en otra parte del presente documento. Además, la persona experta sabe cómo proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz en una forma adecuada para el presente procedimiento. Los detalles sobre lo anterior se proporcionan en otra parte de la presente memoria descriptiva.

- 35 Preferentemente, dicha composición a administrar en el procedimiento de la invención anteriormente mencionado comprende los citados componentes en las siguientes formulaciones homeopáticas

- i) Aranea diadematus dilución D6;
- ii) Calcium phosphoricum dilución D12;
- 40 iii) Equisetum hiemale ex herba re dilución D4;
- iv) Ferrum jodatum dilución D12;
- v) Fumaria officinalis dilución D4;
- vi) Gentiana lutea dilución D5;
- vii) Geranium robertianum dilución D4;
- viii) Levothyroxinum dilución D12;
- 45 ix) Myosotis arvensis dilución D3;
- x) Nasturtium officinale dilución D4;
- xi) Natrium sulfuricum dilución D4;
- xii) Pinus silvestris dilución D4;
- xiii) Sarsaparillae radix dilución D6;
- 50 xiv) Scrophularia nodosa dilución D3;
- xv) Teucrium scorodonia dilución D3; y
- xvi) Veronica officinalis dilución D3.

Preferentemente, para administrar una cantidad terapéuticamente eficaz, la composición proporciona la composición en una cantidad correspondiente a la cantidad proporcionada por al menos aproximadamente de 0,125 a 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto que se va a tratar en días alternos.

55

Todas las referencias citadas en la totalidad de la presente memoria descriptiva se incorporan por la presente por referencia con respecto al contenido específico de la descripción con respecto a lo anterior así como en su totalidad.

Figuras

La **Figura 1** muestra una reducción en la hinchazón del tejido y un aumento en la cicatrización de heridas en ratones tratados con una composición de acuerdo con la invención (Lymphomyosot N®). El linfoedema en la piel de la cola del ratón se indujo durante un periodo de 30 días mediante una ablación quirúrgica de 1 mm de ancho que se dejó sin protección. Los sitios de la herida en los días 3, 12, y 21 para control, dosis de 5 µl, 25 µl, y 50 µl de inyección de fármaco se muestran de arriba abajo, respectivamente (A). Barra de escala en el panel inferior derecho = 5 mm. Se representa gráficamente la evolución de la hinchazón de la cola (B) y cierre de la herida (C) durante el periodo de 30 días para las diferentes condiciones. Para los datos de hinchazón (formación del linfoedema), los diámetros de la cola se normalizaron al diámetro promedio inicial (antes de la hinchazón) de las colas para cada grupo. Para los datos de cierre de la herida, las longitudes de la herida se normalizaron a la longitud inicial de la herida de 1 mm. n=10 por grupo. Una elevada significación estadística del grupo de inyección de 25 µl de fármaco con respecto al grupo control ($p < 0,005$) se representa por *. La diferencia estadística entre el grupo de 5 µl y el grupo de control se representa por # ($p < 0,05$) y ## ($p < 0,005$). La diferencia estadística entre el grupo de 50 µl y el grupo de control se representa por % ($p < 0,05$).

La **Figura 2** muestra que una composición de acuerdo con la invención (Lymphomyosot N®) no aumenta la linfangiogénesis de los capilares linfáticos. El linfoedema en la piel de la cola del ratón se indujo mediante una ablación quirúrgica de 1 mm de ancho que se protegió con una almohadilla de silicona. Se muestran imágenes de criosecciones gruesas marcadas con LYVE-1 (color gris) de la piel de la cola 10 días después de la cirugía para los ratones tratados con 25 µl de suero salino (A) o fármaco (B). Barra de escala en el panel derecho inferior = 0,5 mm. La línea discontinua vertical de color blanco en A y B marca el borde distal entre el tejido natural y el tejido en regeneración. El gráfico muestra la distancia de la migración capilar linfática al interior de la región en regeneración en los grupos tratados con suero salino y fármaco (C). No se produjeron diferencias estadísticas entre estos grupos. n=10.

La **Figura 3** muestra que una composición de acuerdo con la invención (Lymphomyosot N®) no aumenta la linfangiogénesis de los vasos linfáticos. Los ganglios linfáticos axilares se extirparon del ratón, y los vasos linfáticos de la extremidad anterior se visualizaron mediante linfoangiografía con verde de indocianina (gris). Se muestra una extremidad anterior no operada de control (A), las extremidades anteriores operadas del ratón que recibieron 25 µl de suero salino el día 10 (B) y el día 15 (C), y las extremidades anteriores operadas del ratón que recibieron 25 µl de fármaco en el día 10 (D) y el día 15 (E). La flecha de color gris identifica la señal de fluorescencia en la axila. n=5 por grupo.

La **Figura 4** muestra que una composición de acuerdo con la invención (Lymphomyosot N®) modula la infiltración de macrófagos durante la cicatrización de la herida experimental. El linfoedema en la piel de la cola del ratón se indujo mediante una ablación quirúrgica de 1 mm de ancho de la piel que se situó a 10 mm de la base de la cola y se dejó sin protección. Se muestran imágenes de la fluorescencia del marcador de macrófagos F4/80 (A-C) (el antígeno inmunodetectado de cada imagen se muestra de color gris). Los macrófagos se detectaron en secciones de tejido de la piel de la cola edematosa con linfa del ratón tratado con suero salino (A), 25 µl del fármaco (B), o 50 µl del fármaco (C). La epidermis de la piel se localiza en la parte superior de cada imagen. Barra de escala en el panel inferior derecho de C = 1 mm. El borde de la herida está a la izquierda de cada imagen (no se muestra). La dirección distal es hacia la derecha de cada imagen. El color gris de cada imagen muestra los núcleos celulares marcados con DAPI. La medición del porcentaje de cobertura de los macrófagos para los diferentes tratamientos (D) demostró la inhibición del reclutamiento macrófagos en el tejido hinchado debido al tratamiento con el fármaco. n=10 por grupo. Una diferencia significativa con respecto a las condiciones del control se indica mediante * ($p < 0,05$).

La **Figura 5** muestra imágenes de ratones en posiciones supina y prona que se recogieron inmediatamente después de la eutanasia en el día 30 en ratones que se sometieron a cirugía según el modelo 1. Se muestran ratones que recibieron inyecciones de 50 µl de suero salino (A), y ratones que recibieron 5 µl (B), 25 µl (C), o 50 µl (D) de Lymphomyosot N®. Un color amarillento (gris) está presente en el pelo de los ratones que recibieron 5 µl del fármaco (B), pero la decoloración fue más pronunciada en los ratones que recibieron la dosis de fármaco de 25 µl. No fue evidente decoloración en el pelo de ratones que recibieron la dosis de 50 µl. n = 10 por grupo.

Ejemplos**Ejemplo 1: Procedimientos generales y materiales**

Se usaron ratones balb/c hembra (Jackson Labs; 6-8 semanas). Los ratones se anestesiaron con isoflurano al 2,5% mezclado con oxígeno gaseoso para los procedimientos quirúrgicos, y se eutanzaron en los puntos finales experimentales mediante asfixia con CO₂. Todos los protocolos fueron aprobados por el Animal Care and Use Committee de la Michigan Technological University.

Modelo 1 - Linfedema de la cola: cicatrización de heridas normal:

Se creó un edema en la pie de la cola en los ratones balb/c extirpando una banda circular de 1 mm de la dermis (que contiene la red capilar linfática) a 1 cm desde la base de la cola, dejando el hueso subyacente, músculo, tendones, y

vasos sanguíneos principales, intactos, análogamente a los estudios anteriores (Rutkowski 2006, Microvasc Res 72:161-71; Swartz 1999, J Biomech 32:1297-307). Los ratones se dividieron en cuatro grupos (diez ratones por grupo) para mediciones de heridas en la cola y cierre de heridas, y recibieron inyecciones i.p. de 5, 25, o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de suero salino el día de la cirugía, y después en días alternos hasta la eutanasia el día 30. Un grupo diferente de ratones se dividieron en grupos (diez ratones por grupo) y recibieron inyecciones i.p. de 25 o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de suero salino el día de la cirugía, y después en días alternos hasta la eutanasia el día 9 para el análisis de reclutamiento de macrófagos en la piel de la cola hinchada.

Modelo 2 - Linfedema de la cola: cicatrización de heridas cubierta:

Se creó un modelo de reparación de tejidos sin cicatrices/mejorado del edema en la piel de la cola en ratones in balb/c mediante eliminación de la dermis como anteriormente, con la región de regeneración situada a medio camino hacia la cola. Tras la herida, la región de la herida se cubrió con un manguito de silicona permeable a gases de ajuste cerrado (similar a estudios anteriores Ongstad 2010, Am J Physiol Heart Circ Physiol 299:46-54; Boardman 2003, Circ Res 92:801-8; Goldman 2007, AJP 292:2176-83; Goldman 2005, Circ Res 96:1193-9; Goldman 2007, FASEB J 21:1003-12; Pytowski 2005, J Natl Cancer Inst 97:14-21; Rutkowski 2006, Am J Physiol Heart Circ Physiol 291:H1402-10) el manguito protegió el sitio de la herida, dejando que el tejido se repare más rápidamente y de forma relativamente exenta de cicatrices. La colocación de una cubierta circular para heridas a medio camino hacia la cola no dio como resultado un edema de la piel distal de la cola. Los ratones se dividieron en dos grupos (diez ratones por grupo) y recibieron inyecciones i.p. de 25 microlitros de Lymphomyosot N® o suero salino el día de la cirugía y después en días alternos hasta la eutanasia el día 10 para el análisis de la migración de los capilares linfáticos.

Modelo 3 - Linfedema de la extremidad anterior:

Se produjo un modelo de linfedema en la extremidad anterior como se ha descrito anteriormente en Tammela 2007, Nat Med 13:1458-66). Los ratones se anestesiaron con isoflurano al 2,5% mezclado con oxígeno gaseoso. Las patas delanteras derechas recibieron una inyección subdérmica con azul de tripan al 1% para la detección de los ganglios linfáticos axilares. Una incisión quirúrgica de 5 mm de longitud a través de la dermis se colocó a lo largo de la axila en el lado derecho, y los ganglios linfáticos axilares se identificaron y extirparon a lo largo de con las porciones visibles de los vasos aferentes pre y postganglionares, bajo un estereomicroscopio Olympus SZX7. La dermis se suturó con sutura 6-0 (Harvard Apparatus, Holliston, MA) y se dejó que los ratones se recuperaran hasta el día 10 o 15. Los ratones se dividieron en dos grupos (10 ratones por grupo) y recibieron inyecciones i.p. de 25 microlitros de Lymphomyosot N® o suero salino el día de la cirugía y después en días alternos hasta la eutanasia en los días 10 (5 ratones por grupo) y 15 (5 ratones por grupo) para obtención de imágenes IC-Green y análisis de la regeneración de los vasos linfáticos.

Inmunofluorescencia e inmunohistoquímica

Los especímenes de la cola del modelo 2 se cortaron en criosecciones de 10 o 150 µm y se inmunotifieron. La inmunotinción de criosecciones de la cola se realizó con anticuerpos contra LYVE-1 en las secciones gruesas para detectar las células linfáticas endoteliales (LEC). Se usó un anticuerpo policlonal de cabra contra el receptor LYVE-1 específico de hialuronato (Upstate, Charlottesville, VA) junto con un anticuerpo secundario de burro dirigido contra Ig de cabra Alexa Fluor 488 (Invitrogen). Se detectaron macrófagos en las criosecciones de 10 µm de la piel de cola de ratón por etiquetado con el marcador F4/80 específico de macrófagos Austyn 1981, Eur J Immunol 11:805-15). Se usó un anticuerpo biotinilado dirigido contra F4/80 (Serotec) junto con estreptavidina conjugada con Alexa Fluor 555 (Invitrogen). Los núcleos celulares de las secciones marcadas con LYVE-1 y F4/80 se contratiñeron con 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI; Vector Laboratories, Burlingame, CA).

Mediciones fisiológicas

Imágenes de la cola del ratón procedentes del modelo de linfedema de la piel en regeneración descubierta se capturaron cada tres días para cada cola de ratón con una cámara en color DP71 montada en un estereomicroscopio. La hinchazón de la cola se determinó con el programa informático Metamorph midiendo diámetros de la cola a partir de las imágenes digitales de la cola hinchada distal al sitio de la herida. El cierre de la herida se midió a lo largo del eje longitudinal de la cola como la distancia entre el tejido en regeneración distal y proximal a través del sitio de la herida. La cobertura porcentual de macrófagos se determinó dentro de la piel hinchada distal a la herida en secciones de tejido marcadas con F4/80 con un análisis de umbrales realizado con el programa informático Metamorph.

Captura de imagen de los vasos linfáticos funcionales mediante linfografía con fluorescencia IC-Green

Se usó un sistema de obtención de imágenes recientemente desarrollado por Eva M. Sevic-Muraca (Kwon 2007 Lymphat Res Biol 5:219-31; Sevic-Muraca 2008, Radiology 246:734-41; Sharma 2007, Am J Physiol Heart Circ Physiol 292:H3109-18) para detectar vasos linfáticos funcionales y ganglios linfáticos en la extremidad anterior del ratón. 5 microlitros de una solución de 5 mg/ml del colorante fluorescente en el infrarrojo cercano tinte verde de indocianina (ICG; Akorn) se inyectaron en la pata del ratón. La detección del ICG se realizó con un dispositivo multiplicador acoplado a cargas (CCD) (Hamamatsu, C9100-13). El ICG se iluminó con una matriz de LED de 760

nm (Epitex Inc) situada antes de un filtro de paso de banda de 760 nm (modelo 760FS10-50, Andover Corporation) que se usó para proporcionar la luz de excitación para activar el ICG. Un filtro de rechazo de banda de muesca holográfica de 785 nm y 763 nm fabricado de forma personalizada (modelo HNPF-785.0-2.0 y HNPF-763.0-2.0, Kaiser Optical Systems) y un filtro de paso de banda para calidad de imagen a 830 nm (modelo 830FS20-25, Andover Corporation) se situaron antes de la lente de la cámara para rechazar selectivamente la luz de excitación y pasar la longitud de onda de emisión de 830 nm.

Procedimientos estadísticos

Se usaron un mínimo de cinco animales para cada punto de datos. Se usaron diez animales para la mayoría de los datos puntuales. Los datos se presentaron como media con error estándar (SE). Los valores P se calcularon usando ANOVA o la prueba de la T, como se indica.

Ejemplo 2: Hinchazón reducida del tejido mediante la administración de Lymphomyosot N®

La capacidad de Lymphomyosot N® para reducir la hinchazón del tejido durante el linfoedema y para alterar la cicatrización de heridas se sometió a ensayo utilizando un modelo experimental del linfoedema. Las heridas y el linfoedema se indujeron en las colas de los ratones según el modelo 1, y la hinchazón de la cola se midió durante un período de 30 días en ratones que recibieron cualquiera de 5, 25, o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de suero salino, administrado mediante inyecciones i.p. (Figura 1A y 1B). Se descubrió una reducción en la hinchazón de la cola en ratones que habían recibido 25 microlitros de fármaco con respecto al grupo control de suero salino. Las diferencias fueron muy significativas el día 9, y permanecieron muy significativas durante la totalidad del estudio ($p < 0,005$ según ANOVA). Se descubrió además una reducción en la hinchazón de la cola durante los días 21 - 30 en los ratones que recibieron 5 microlitros del fármaco. Esta diferencia fue muy significativa el día 24 ($p < 0,005$ según ANOVA) y significativa el resto de los días ($p < 0,05$ según ANOVA). Las diferencias en el diámetro de la cola entre los ratones con linfa edematosa que recibieron 50 microlitros del fármaco con respecto a la administración de suero salino no fueron significativas en ningún momento. Estos resultados muestran que Lymphomyosot N® reduce la hinchazón y facilita la cicatrización de heridas de la cola del ratón y que 25 microlitros de Lymphomyosot N® fue la dosis más eficaz para reducir el diámetro de la cola, seguido por la dosis de 5 microlitros, sin efecto para la dosis de 50 microlitros.

Ejemplo 3: La reducción en la hinchazón del tejido coincide con un mejor reparación de la herida

Recientemente, se ha demostrado que la hinchazón de tejido en el modelo de cola de ratón del linfoedema empeoraba cuando la reparación de la herida quirúrgica se impedía mediante la neutralización combinada de la señalización del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR)-2 y VEGFR-3. Por el contrario, la hinchazón mejoró cuando la reparación de la herida aumentó con una almohadilla protectora de silicona. La inhibición de la regeneración linfática neutralizando la señalización de VEGFR-2 o VEGFR-3 no alteró negativamente la resolución de la hinchazón de la cola (Ongstad 2010, Am J Physiol Heart Circ Physiol 299:46-54). Estos resultados sugieren que la hinchazón del tejido puede estar relacionada con la reparación de la herida de lesiones vinculadas al sistema linfático en lugar de, o además de, la linfangiogénesis a través del sitio de la herida. Puesto que se ha descubierto en este estudio una reducción rápida de la hinchazón del tejido en colas tratadas con Lymphomyosot N®, se examinó la obstrucción quirúrgica de la evolución de la herida para determinar si la reparación de la herida estaba relacionada con la hinchazón del tejido. Para este fin, el cierre de la herida entre los diferentes grupos se cuantificó y se comparó. Se descubrió que la administración de 25 microlitros de Lymphomyosot N® aceleró el cierre de la herida con respecto al tratamiento con suero salino (Figura 1C). Las diferencias entre estos grupos fueron muy significativas el día 12, y permanecieron muy significativas durante la totalidad del estudio ($p < 0,005$, según ANOVA). También se descubrió que la administración de 5 microlitros de Lymphomyosot N® también aceleraba el cierre de la herida con respecto a las heridas del control (Figura 1C). Estas diferencias fueron muy significativas en el día 21 ($p < 0,005$, según ANOVA) y significativas en los días 24 - 30 ($p < 0,05$, según ANOVA). Por lo tanto, un reparación de la herida mejorada (Figura 1C) y un diámetro de la cola reducido (Figura 1B) con Lymphomyosot N® parecen ser temporalmente coincidentes. Este hallazgo confirma que Lymphomyosot N® puede reducir la hinchazón del tejido aumentando la reparación de la herida de la obstrucción quirúrgica.

Ejemplo 4: Lymphomyosot N® no afecta la regeneración de capilares linfáticos o vasos linfáticos

Anteriormente se había demostrado que la reparación incorrecta de la obstrucción quirúrgica estimula indirectamente la linfangiogénesis funcional, a medida que el fluido intersticial y las células linfáticas son capaces de diseminarse libremente a través de un puente de matriz restaurado relativamente exento de cicatrices (Ongstad 2010, Am J Physiol Heart Circ Physiol 299:46-54; Uzarski 2008, Am J Physiol Heart Circ Physiol 294:1326-34; Goldman 2007, AJP 292:2176-83). Para determinar si Lymphomyosot N® tiene un efecto directo sobre linfangiogénesis, se produjo una región claramente definida de piel en regeneración exenta de cicatrices dentro de la cual se produce la linfangiogénesis (según el modelo 2). En este modelo, la piel tratada con Lymphomyosot N® y la piel de control tratada con suero salino experimentaron una reparación de la herida mejorada debido a la protección de la zona de la herida con una almohadilla de silicona. Por lo tanto, después del tratamiento con fármaco, cualquier diferencia obtenida en la migración de células linfáticas a lo largo de la zona de la obstrucción quirúrgica se debería a un

acción directa del fármaco y no a una acción indirecta secundaria para mejorar la reparación de la herida. A partir de un estudio anterior se sabe que la migración linfática al interior de la región protegida en regeneración se puede detectar en secciones transversales inmunoteñidas el día 10 después de la cirugía (Goldman 2007, FASEB J 21:1003-12). Para determinar la capacidad de Lymphomyosot N® para aumentar la regeneración de los capilares linfáticos, se prepararon grupos de ratones con regiones en regeneración cubiertas según el modelo 2 y que recibieron bien 25 microlitros del fármaco o suero salino mediante inyecciones ip. Tras someter al animal a eutanasia el día 10, las regiones en regeneración se crioseccionaron en secciones gruesas para inmunotinción con LYVE-1 de células endoteliales linfáticas y se observaron con el microscopio de fluorescencia tridimensional (Figura 2). La distancia de la migración de las células endoteliales linfáticas a la región en regeneración se midió a partir de las secciones teñidas con LYVE-1 para todas las colas (Figura 2C). Las comparaciones entre los grupos mostraron que Lymphomyosot N® no aumentó la distancia de la migración de las células endoteliales linfáticas ($p > 0,05$ según la prueba t de Student).

Puesto que el linfoedema en seres humanos está causado principalmente por la rotura de los vasos linfáticos en lugar de por la rotura de los capilares linfáticos, era el objetivo determinar si Lymphomyosot N® puede actuar directamente sobre los vasos linfáticos en regeneración. Para aclarar la capacidad de Lymphomyosot N® para aumentar la regeneración de los vasos linfáticos, se extirparon los ganglios linfáticos axilares según el modelo 3. Los ratones se sometieron a una intervención quirúrgica para disección de los ganglios linfáticos, y recibieron bien 25 microlitros del fármaco o suero salino mediante inyecciones ip hasta realizar imágenes linfáticas del animal vivo el día 10 o 15 con tinte IC-Green (5 ratones por grupo). 10 minutos después de una inyección de IC-Green en la extremidad anterior del ratón sin operar, puede verse al trazador de linfa fluorescente fluyendo desde el sitio de inyección en la pata, a través de un único vaso linfático de la extremidad anterior, y alcanzando el sitio del ganglio linfático axilar (Figura 3A - la flecha gris identifica la señal fluorescente en la axila), señalizando el transporte funcional del tinte fluorescente desde el sitio de inyección en la pata hasta la axila. Tras la extirpación de los ganglios linfáticos de la extremidad anterior del ratón, se descubrió una falta de acumulación del tinte en la axila para los ratones tratados tanto con fármaco como con suero salino el día 10, lo que indica vasos linfáticos poco funcionales en ambos grupos de ratones en ese momento (Figura 3B y 3D). Por el contrario, la acumulación de IC-Green se recuperó en el sitio de la axila hacia el día 15 en ambos grupos (Figura 3C y 3E) lo que indica un sistema de transporte regenerado de vasos linfáticos en la extremidad anterior del ratón. Los datos indican que es posible que Lymphomyosot N® no afecte el drenaje linfático mediante la regeneración de los vasos linfáticos.

Ejemplo 6: Lymphomyosot N® modula la infiltración de macrófagos en el tejido hinchado

Puesto que Lymphomyosot N® no tuvo efecto sobre los capilares o vasos linfáticos en regeneración, se teorizó que el fármaco puede reducir la hinchazón del tejido actuando sobre las vías inflamatorias, además de mejorar la reparación de la herida. Puesto que se observó una reducción significativa en la hinchazón en el día 9 en el grupo tratado con 25 microlitros de fármaco, se indujo linfoedema en la cola del ratón (según el modelo 1) y las colas se evaluaron el día 9 para determinar el alistamiento de macrófagos. Los ratones recibieron inyecciones i.p. de 25 o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de suero salino (10 ratones por grupo). Las colas recogidas se crioseccionaron e inmunotincieron de nuevo con el marcador de macrófagos F4/80 (Figura 2). Se encontró que la cobertura de macrófagos era mayor en el grupo de control del suero salino, y significativamente reducida en el grupo tratado con 25 microlitros de fármaco ($p < 0,05$, según ANOVA; Figura 4D). No hubo reducción en el grupo tratado con 50 microlitros de fármaco. Lymphomyosot puede haber acelerado la migración de los macrófagos fuera del tejido afectado en el momento de realizar la medición del tejido, y/o modular su alistamiento o inhibir su reclutamiento.

Ejemplo 7: Decoloración amarillenta del pelo descubierta en ratones tratados con Lymphomyosot N®

Durante la experimentación para producir los datos de la Figura 1, una notable decoloración amarillenta del pelo apareció sobre los ratones que recibieron las inyecciones 25 microlitros de Lymphomyosot N® (Figura 5C). A medida que la decoloración en este grupo se oscureció con el tiempo, también fue evidente una decoloración amarillenta en el pelo de los ratones que recibieron las inyecciones de 5 microlitros de Lymphomyosot N® (Figura 5B). Los ratones que recibieron las inyecciones de suero salino de control (Figura 5A) o inyecciones de 50 microlitros de Lymphomyosot N® (Figura 5D) no experimentaron decoloración en la misma medida. El origen de la decoloración no era evidente, pero el color amarillento se inició en los genitales y se diseminó hacia afuera con el tiempo para decolorar el pelo en lugares más distantes. Es posible que una alteración en el contenido de la orina derivado del tratamiento con Lymphomyosot N® causara la tinción amarillenta del pelo del ratón.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para su uso en el tratamiento de heridas, en la que dicha composición comprende Aranea diadematus, Calcium phosphoricum, Equisetum hiemale, Ferrum jodatum, Fumaria officinalis, Gentiana lutea, Geranium robertianum, Levothyroxinum, Myosotis arvensis, Nasturtium officinale, Natrium sulfuricum, Pinus silvestris, Sarsaparillae radix, Scrophularia nodosa, Teucrium scorodonia, y Veronica officinalis.
2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que dicha composición comprende dichos componentes en las siguientes formulaciones homeopáticas
- 10 i) Aranea diadematus dilución D6;
ii) Calcium phosphoricum dilución D12;
iii) Equisetum hiemale ex herba re dilución D4;
iv) Ferrum jodatum dilución D12;
v) Fumaria officinalis dilución D4;
vi) Gentiana lutea dilución D5;
vii) Geranium robertianum dilución D4;
- 15 viii) Levothyroxinum dilución D12;
ix) Myosotis arvensis dilución D3;
x) Nasturtium officinale dilución D4;
xi) Natrium sulfuricum dilución D4;
xii) Pinus silvestris dilución D4;
- 20 xiii) Sarsaparillae radix dilución D6;
xiv) Scrophularia nodosa dilución D3;
xv) Teucrium scorodonia dilución D3; y
xvi) Veronica officinalis dilución D3.
- 25 3. La composición para uso de la reivindicación 2, en la que dicha composición se administra en una cantidad de al menos 0,125 a 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto a tratar en días alternos.
4. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicha composición modula los mecanismos inflamatorios o celulares durante la cicatrización de heridas.
5. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha composición comprende al menos un principio farmacéuticamente activo adicional de Juglans regia.
- 30 6. La composición para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha composición comprende además un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Fig. 1.

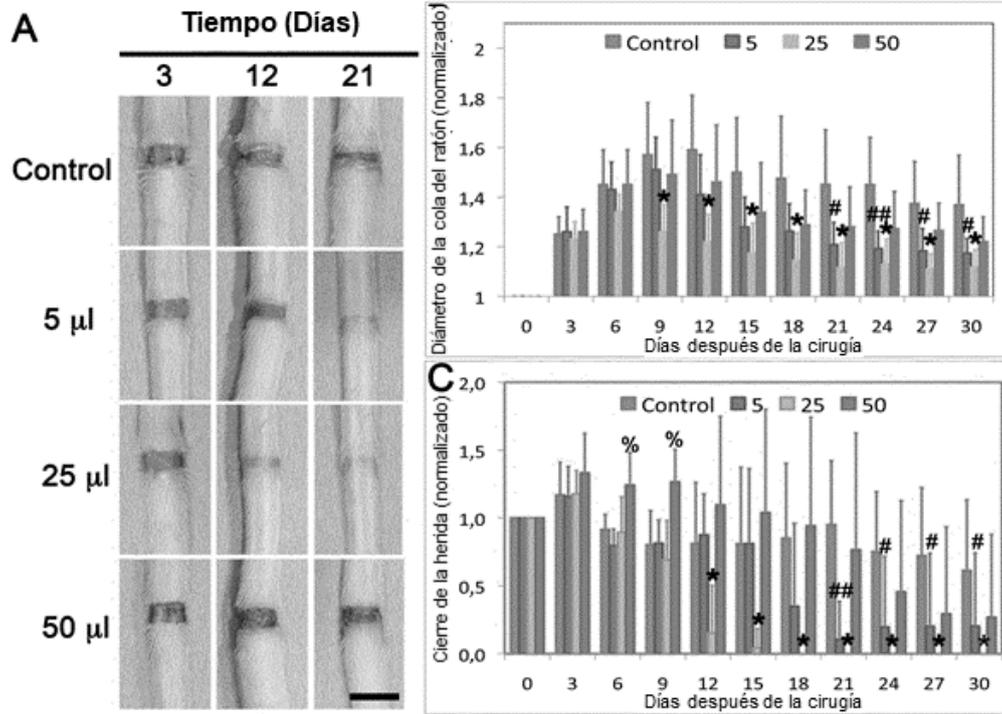


Fig. 2.

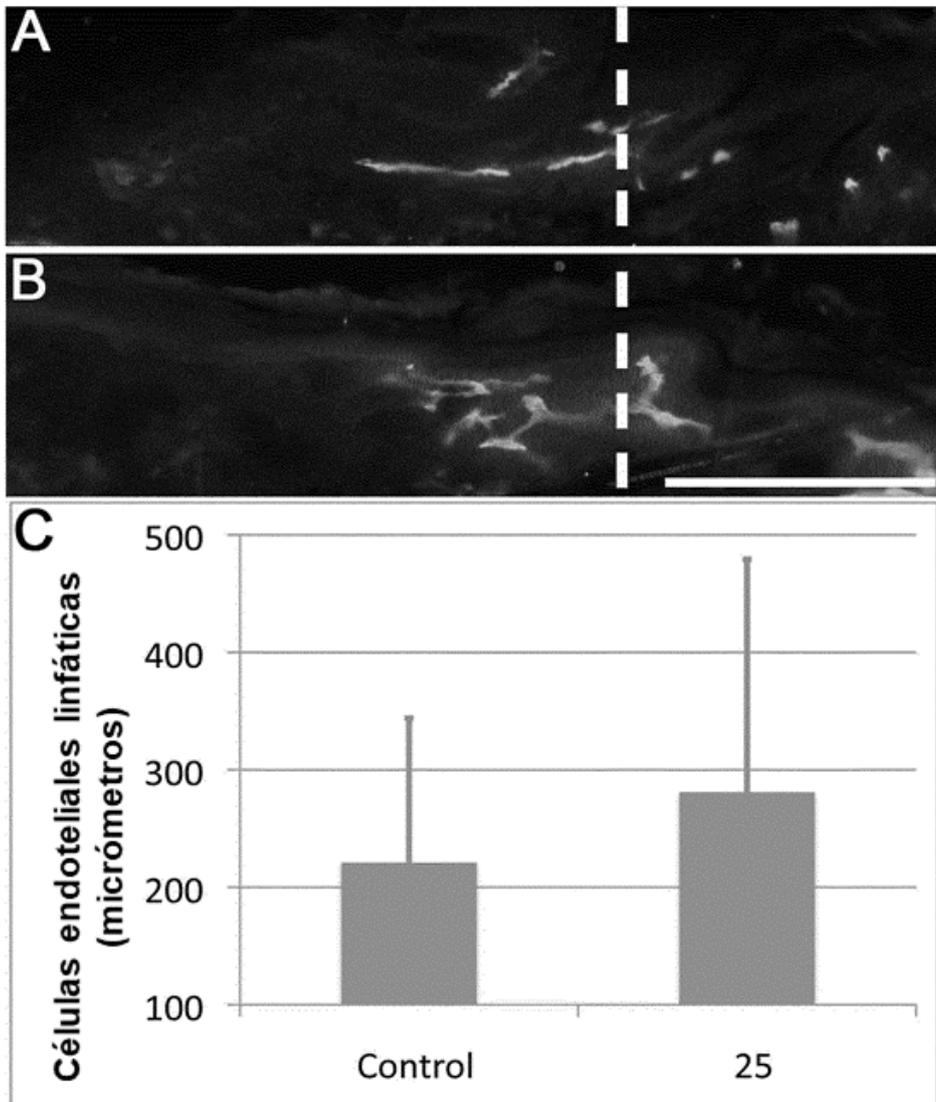


Fig. 3.

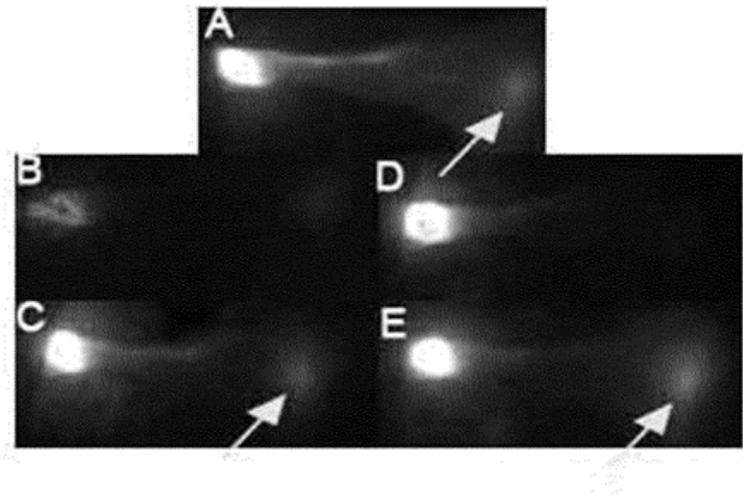


Fig. 4.

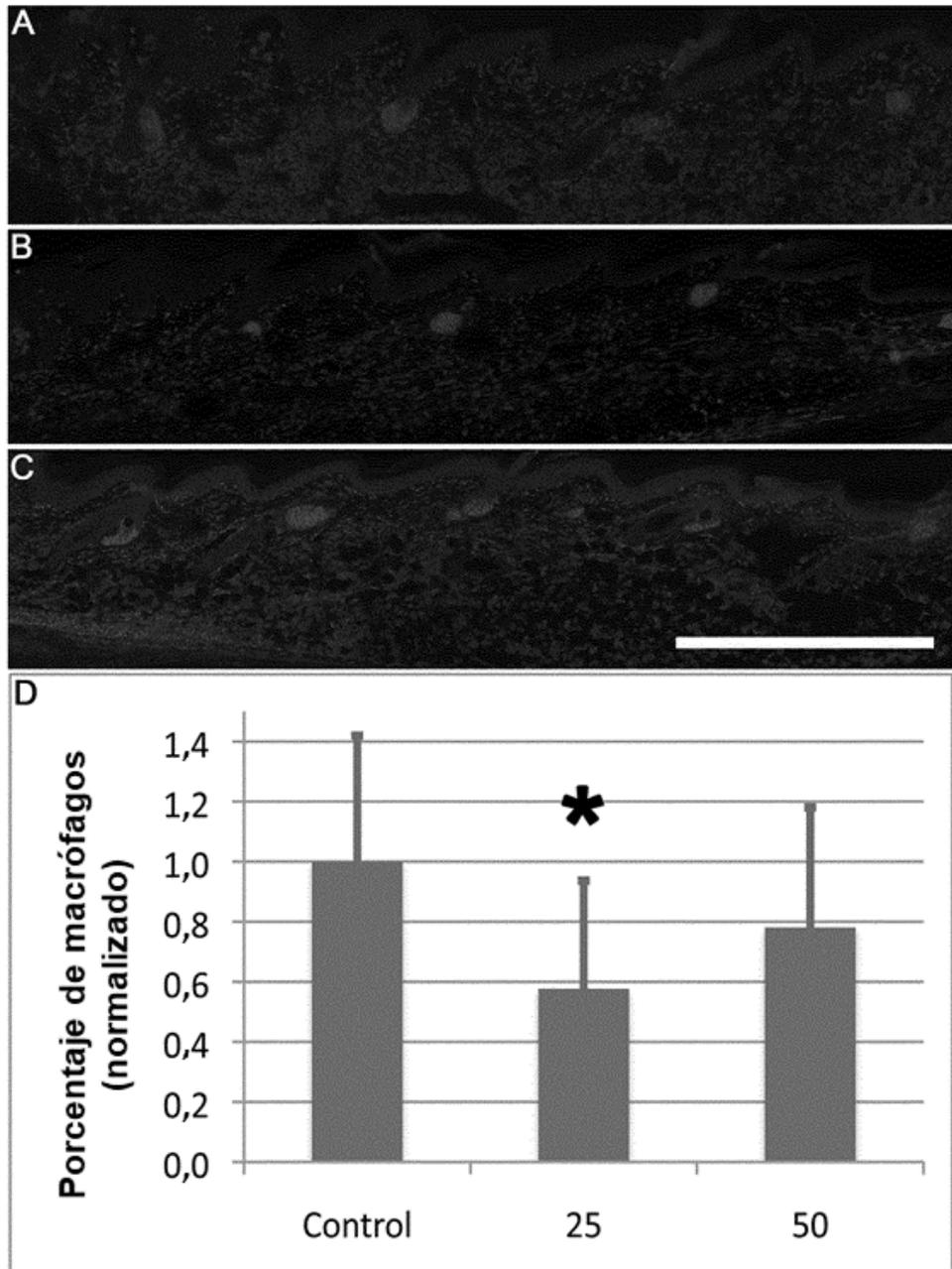


Fig. 5.

